Über 17-Allyl-androstendiol und einige seiner Umwandlungsprodukte zur Kenntnis der oestrogenen Stoffe in der Steinkohle

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

genehmigt von der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

von

Dietrich Peters
aus Leipzig.

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Mai 1939
Tag der Promotion: 15. Nov. 1939

1939

Druckerei wissenschaftl. Werke Konrad Triltsch, Würzburg-Aumühle

N 76

Referenten: *Professor Dr. Butenandt.*

Professor Dr. Leuchs.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Professor Dr. A. Butenandt vom März 1937 bis Dezember 1938 im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem ausgeführt.

Herrn Professor Dr. Butenandt danke ich herzlich für die fördernde Unterstützung, die er meiner Arbeit durch Anregungen und Ratschläge zuteil werden ließ.

Herrn Dr. J. Schmidt-Thomé sage ich für seine stetige Hilfsbereitschaft, Fräulein D. von Dresler und Fräulein U. Meinerts sowie Herrn Dr. Hohlweg im Hauptlaboratorium der Schering A.-G., Berlin, für die Ausführung der physiologischen Prüfungen meinen besten Dank; ebenso bin ich der Schering A.-G., Berlin, für die Belieferung mit Ausgangsmaterial zu Dank verpflichtet.

I. Teil

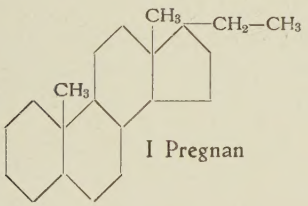
Über 17-Allyl-androstendiol und einige seiner Umwandlungsprodukte.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

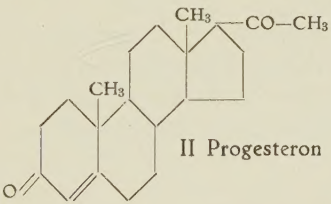
https://archive.org/details/IA41550804_0209

Einleitung.

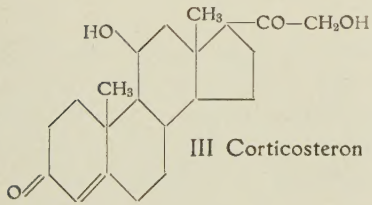
Eine Anzahl interessanter Wirkstoffe besonders des tierischen Reiches sind als Steroide erkannt worden, die neben einem charakteristischen Substituenten am C_3 in 17-Stellung des Cyclopentanopolyhydro-phenanthren-Skeletts eine spezifische Seitenkettengruppierung tragen. In der Klasse solcher Stoffe, die der C_{21}-Reihe, der „Pregnan-Gruppe" (I), angehören, beanspruchen das Progesteron (II), das Hormon aus dem Gelbkörper der weiblichen Keimdrüse, und das Corticosteron (III), das Hormon der Nebennierenrinde, das hauptsächlichste Interesse. Obwohl sie in ihren physiologischen Aufgaben grundlegend verschieden sind — das Progesteron dient der Schwangerschaftsvorbereitung und ihrer Erhaltung, das Corticosteron [1]) der Aufrechterhaltung des normalen Stoffwechsels — unterscheiden sie sich nur durch den Gehalt zweier Hydroxylgruppen. Dem Desoxy-



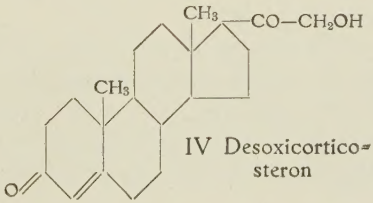
I Pregnan



II Progesteron



III Corticosteron



IV Desoxicorticosteron

corticosteron (IV), das synthetisch aufgebaut und ebenfalls als Inhaltsstoff der Nebennierenrinde aufgefunden wurde, fehlt sogar die

[1]) Soweit nicht besonders gekennzeichnet, entstammen sämtliche Angaben über Corticosteron und seine Begleitstoffe der Zusammenfassung von Reichstein (1); dort weitere Literatur.

in ihrer 11-Stellung noch nicht völlig gesicherte Oxygruppe. Das ist ein Ausdruck für die relativ hohe Wirkungsspezifität innerhalb der Pregnan-Reihe. Die biologische Wirksamkeit des Desoxy-corticosterons übertrifft die des Corticosterons um das 5- bis 10fache (2), so daß man in dieser Substanz das bisher wirksamste Nebennieren-Inkret erkannt hat. Darüber hinaus ist sie die bisher einfachste Verbindung, die an nebennierenlosen Tieren die Erhaltung des normalen Stoffwechsels bewirkt.

Im Hinblick auf die Spezifität der Wirkung verwandter Stoffe und die Erprobung neuer synthetischer Möglichkeiten erschien es lohnenswert, Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeitsrichtung vorzunehmen.

In dem durch oxydativen Abbau der Seitenkette des Cholesterinacetats verhältnismäßig leicht zugänglichen trans-Dehydro-androsteron-acetat (3) (VIIa) stand — durch die Angreifbarkeit der 17-Oxo-Gruppierung für den Anbau von Seitenketten — ein geeignetes Ausgangsmaterial zur Verfügung. In Ergänzung zu Versuchen mit methyl-, äthyl- und äthinsubstituierten Verbindungen (4; 5, 6, 7; 8) wurden in dieser Arbeit (40) wegen der Reaktionsfähigkeit der Doppelbindung solche mit einer Vinyl- (V) bezw. Allyl-seitenkette (VIII) als Grundsubstanzen erwählt. Im ersten Falle würde durch die Lage der Doppelbindung die C_{20}- und C_{21}-Stellung für oxydative Reaktionen zugänglich sein, im zweiten die C_{21}- und C_{22}-Stellung, was einerseits zu interessanten Verbindungen der noch unbekannten C_{22}-Reihe, eventuell zu höheren Homologen der Cortin-Gruppe, andererseits durch Abspaltung des äußersten C-Atoms zu neuen Stoffen der C_{21}-Klasse führen konnte.

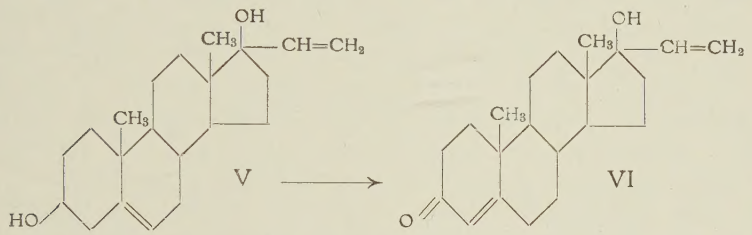
I

Vor Beginn dieser Arbeit waren über die Angliederung der Vinyl- bezw. Allylseitenkette an Dehydro-androsteron (VIIb) nur von Kuwada und Yago (9) Untersuchungen bekannt gemacht worden. Im Verlauf der Nacharbeitung dieser Versuche erwies sich jedoch eine kritische Prüfung der Veröffentlichung als erforderlich.

a) Zur Umsetzung des Dehydro-androsterons mit Vinylmagnesiumbromid.

In einer sehr großen Zahl von Versuchen wurde bisher vergeblich die Reproduktion der von den Japanern am Vinyl-androstendiol (V)

beschriebenen Ergebnisse angestrebt. Das Vorhandensein des von ihnen primär erhaltenen Vinylmagnesiumbromids muß nach eigenen Versuchen — in Übereinstimmung mit Kogerman (10), dem es

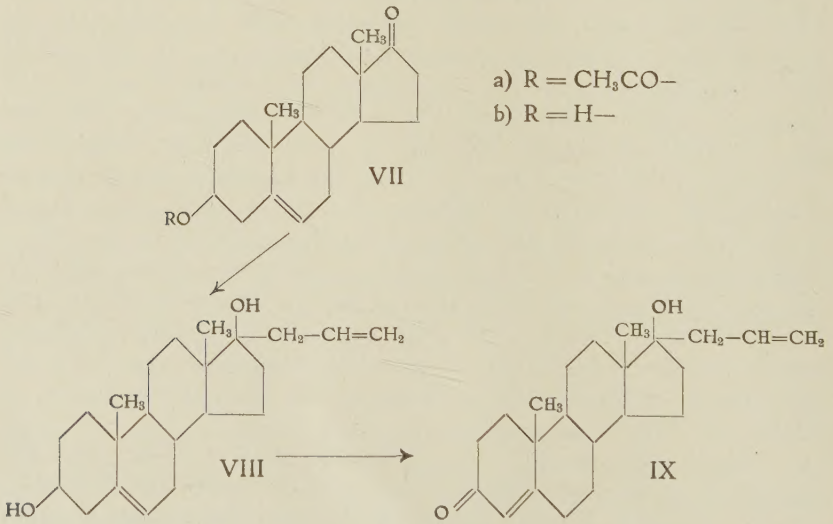


ebenfalls nicht gelang, eine Reaktion zwischen Vinylbromid und Magnesium in Äther zur Grignardverbindung herbeizuführen — angezweifelt werden. Die Reaktionsträgheit des am doppelt gebundenen C-Atom stehenden Halogenatoms macht diese Annahme um so wahrscheinlicher, obwohl sich in der Literatur auch Angaben über die Existenz von Vinylmagnesiumbromid finden lassen (11). Bei genauer Einhaltung der von den Japanern gegebenen Vorschrift zur Darstellung von Vinyl-androstendiol (V), auch bei weitgehender Variation der Versuchsbedingungen, ließ sich — neben geringen Mengen von Δ^5-Androstendiol vom Schmp. 173° — nur unverändertes Ausgangsmaterial als Semicarbazon isolieren. Da das von Kuwada und Yago beschriebene Reaktionsprodukt und sein Acetat in allen ihren Eigenschaften und in ihrer analytischen Zusammensetzung ebenfalls auf das Vorliegen von Dehydro-androsteron hindeuten, kann man — in Übereinstimmung mit einer inzwischen erfolgten Stellungnahme von Ruzicka (12) — mit voller Sicherheit sagen, daß den japanischen Autoren eine Umsetzung des Dehydro-androsterons (VIIb) mit Vinylmagnesiumbromid nicht geglückt ist. Das von ihnen als „Vinyl-androstendiol" bezeichnete Produkt ist als Dehydroandrosteron, ihr vermeintliches „Vinyl-testosteron" als Δ^4-Androstendion aufzufassen, was seinerseits ebenfalls durch Schmelzpunkt und Analyse bestätigt wird. Die Japaner geben eine männliche Wirksamkeit ihres „Vinyl-testosterons" an, die ebenfalls dem Δ^4-Androstendion zu eigen ist, so daß also auch die biologische Auswertung in dieser Weise zu verstehen ist.

Durch Hydrierung des Äthinyl-androstendiols ist mittlerweile ein Vinyl-androstendiol (V) und durch darauffolgende Oxydation ein Vinyl-testosteron (VI) erhalten worden (12, 13).

b) 17-Allyl-Δ^5-androstendiol (3,17) (VIII).

Durch die α-Stellung des Halogens zur Doppelbindung im Allylbromid wird in Analogie zur „Schmidtschen Doppelbindungsregel" die Reaktionsfähigkeit des Bromatoms im Vergleich zu der im Vinylbromid ganz wesentlich erhöht. Um einer Wurtzschen Synthese zum Diallyl, wie sie von Meisenheimer und Casper (14) bei der Darstellung des Allylmagnesiumbromids beschrieben wurde, vorzubeugen, wurde nach der Methodik von Jaworski (15) verfahren, die darauf beruht, daß Allylbromid und Keton gleichzeitig in ätherischer Lösung auf Magnesium getropft werden. Da Grignardreagenzien auf Ester verseifend wirken, konnte die Verseifung der 3-Acetat-Gruppe des Ausgangsmaterials (VIIa) mit in diese Reaktionsphase verlegt werden. Die beschriebene Methodik ermöglichte eine quantitative Ausbeute an 17-Allyl-androstendiol (VIII)



vom Schmp. 151°[2]) und einer optischen Drehung $[\alpha]_D^{20}$: — 42,2° (in Alkohol), aus dem durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin in der Kälte ein bei 154° schmelzendes 3-Monoacetat gewonnen wurde. Diese Befunde bestätigen die Angaben von Kuwada und Yago (9), die ein durch Umsetzung von freiem Dehydro-androsteron (VIIb) mit vorher bereitetem Allylmagnesiumbromid dargestelltes 17-Allyl-androstendiol (VIII) von gleichen Eigenschaften

[2]) Schmp. sämtlich unkorrigiert.

(Schmp. 153—154,5° korr., Acetat: Schmp. 154—156° korr.) beschrieben haben.

Die erhaltene hohe Ausbeute ist bemerkenswert, insofern als bei den bisher in der Literatur beschriebenen Versuchen mit Methyl- und Äthylmagnesiumhalogeniden (4; 5, 6, 7) durch die der Kodensation parallellaufende, hydrierende Wirkung der Grignardreagenzien ein erheblicher Teil des Dehydroandrosterons zu Δ^5-Androstendiol umgesetzt wurde. So wird z. B. bei der Anwendung von Propylmagnesiumjodid nur Δ^5-Androstendiol erhalten (16). Mit Allylmagnesiumbromid geht die gewünschte Reaktion dagegen sehr glatt und leicht so heftig, daß die Entstehung von Diallyl, das sich durch seinen Geruch zu erkennen gibt, begünstigt wird.

Beim Anbau der Seitenkette ergibt sich durch Stereoisomerie am Kohlenstoffatom C_{17} die Möglichkeit zur Entstehung zweier Isomerer. Wie bei der Anlagerung von Äthylmagnesiumbromid, Acetylen und Blausäure an die 17-Ketogruppe von Steroiden entsteht auch beim Allylmagnesiumbromid nur einer der beiden möglichen Stoffe. Daß in den drei zuerst zitierten Fällen die sterische Anordnung die gleiche ist, ergibt sich aus der Verknüpfung dieser Stoffe miteinander bzw. durch den Übergang bei erschöpfender Hydrierung in dasselbe allo-Pregnandiol (3, 17) (16, 17). Bis zur endgültigen Klärung der sterischen Lage bezeichnet man sie auf Vorschlag von Reichstein und Gätzi (17) als zur 17(α)-Reihe [3]) gehörig. Die bisher isolierten Inhaltsstoffe der Nebennierenrinde, soweit sie 3, 17-Dioxy-allo-pregnan-Derivate darstellen, unterscheiden sich von den Stoffen der 17(α)-Reihe durch ihre leichte Fällbarkeit mit Digitonin, scheinen also der 17(β)-Reihe anzugehören.

Obwohl die erschöpfende Hydrierung am Allyl-androstendiol noch aussteht, kann man auf Grund dieser Tatsachen, wenn auch mit Vorbehalt, das Allyl-androstendiol und damit die aus ihm dargestellten Verbindungen, die eine 17-Hydroxylgruppe tragen, der 17(α)-Reihe zuordnen.

Durch Kochen des Allyl-androstendiols (VIII) mit 10-n-Schwefelsäure in alkoholischer Lösung wurde in guter Ausbeute ein bei 141,5° schmelzendes Wasserabspaltungsprodukt $C_{22}H_{32}O$ erhalten, bei dem die neu entstandene Doppelbindung jedoch nicht in der gewünschten Konjugation zur Allyl-Doppelbindung auftrat, wie

---

[3]) Aus Analogieschlüssen kann man nach Miescher und Wettstein annehmen, daß es sich in dieser α-Reihe in Bezug auf die 17-ständige Hydroxylgruppe und die Methylgruppe am C_{13} um die transoiden Verbindungen handelt (16).

die Messung der Absorption im Ultraviolett ergab. Der erhaltene Kurvenzug zeigte nicht das für eine Konjugation ungesättigter Systeme charakteristische Maximum bei etwa 235 mμ. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit entsprechenden Ergebnissen am Äthyl-androstendiol (18).

Die Lage der hinzugekommenen Doppelbindung ist ungewiß. Das prinzipiell ungewöhnliche Verhalten dieser Substanz gegenüber oxydativen Eingriffen — die Oppenauer-Oxydation in Gegenwart von Aluminium-isopropylat mit Aceton in Benzol (19) einerseits und mit Cyclohexanon in Toluol (13) andererseits blieb erfolglos — macht eine Wasserabspaltung von C_{16} nach C_{17} unwahrscheinlich und deutet auf eine intramolekulare Umwandlung hin. Solche Veränderungen im Molekül unter dem Einfluß saurer Mittel sind bei der Aufklärung der Konstitution des Oestrons von Cohen, Cook und Hewett (20) beobachtet worden.

c) 17-Allyl-testosteron (IX).

Die japanischen Autoren (9) glauben, eine Methode zur Überführung des 17-Allyl-androstendiols (VIII) in 17-Allyl-testosteron (IX) gefunden zu haben. Das Ausgangsmaterial wurde in Eisessig-Lösung mit vier Mol. Brom in Reaktion gebracht, mit Chromsäure oxydiert und mit Zink in Eisessig entbromt; auf diese Weise erhielten Kuwada und Yago ein bei 150—153° (korr.) schmelzendes Prodrukt, das sie als Allyl-testosteron angesprochen haben. Bei genauer Nacharbeitung der von ihnen gegebenen Vorschrift konnte jedoch nur eine geringe Menge von unverändertem Ausgangsmaterial als einzig faßbares Produkt isoliert werden.

Der kritischen Untersuchung der Chromsäure-Oxydation am Allyl-androstendiol wurde eine Reihe von Versuchen gewidmet: Die Bromierung in Eisessig zum Tetrabromprodukt und der anschließende Entzug des Broms mit Zinkstaub in alkoholischer Lösung lassen sich ohne Schwierigkeiten durchführen. Es wurde daher die Konzentration an Chromsäure und die Oxydationsdauer variiert, wobei ein äußerlich einheitliches Tetrabromoxydationsprodukt am ehesten bei dreifachem Überschuß an Chromsäure und einer Einwirkungszeit von 30 Min. gefaßt wurde. Dieses Produkt, das wahrscheinlich das gesuchte Tetrabromketon darstellt, ließ sich im Exsiccator längere Zeit aufbewahren. Beim Erhitzen auf 90° und beim Lösen in Äther, Aceton, Benzol, Chloroform, Dioxan, Essigester und vor allem in Eisessig zersetzt es sich momentan, was es verständlich macht, daß

die japanischen Autoren nach dem Entbromen mit Zink in Eisessig nur unverändertes Allyl-androstendiol (VIII) gefaßt haben können. Da sie mit relativ großen Mengen arbeiteten und nur mit 1,5-fachem Überschuß an Chromsäure oxydierten, ist das Auftreten geringer Mengen von Ausgangsmaterial wahrscheinlich. Ihre Angaben über Eigenschaften und Analysen ihres vermeintlichen „Allyl-testosterons" stehen mit dieser Auffassung in Einklang.

Da der bromierte und oxydierte Stoff in niederen Alkoholen keine Zersetzungserscheinungen aufwies, wurde die Entbromung mit Zink- bzw. Magnesiumpulver in Alkohol und mit Natriumjodid nach Schoenheimer (21) versucht; diese Ansätze, ebenso wie entsprechende Versuche am Dibromid des Allyl-androstendiols blieben ohne Erfolg.

Die Darstellung des 17-Allyl-testosterons (IX) gelang leicht durch Dehydrierung des 17-Allyl-androstendiols (VIII) nach der von Oppenauer (19) aufgefundenen Reaktion mit Ketonen in Gegenwart von Aluminium-isopropylat, wobei allerdings bemerkenswert ist, daß nur bei Verwendung von Cyclohexanon in Toluol als Lösungsmittel, gemäß der Abwandlung der Methodik durch Inhoffen, Logemann, Hohlweg und Serini (13), nicht aber bei Anwendung von Aceton in benzolischer Lösung, brauchbare Resultate erzielt wurden. Verglichen mit den Angaben von Kuwada und Yago (9) zeigt es den weitaus niedrigeren Schmelzpunkt von 105—107,5°; es kommt jedoch auch in einer bei 93° schmelzenden Modifikation vor und liefert ein bei 144—146° schmelzendes Oxim. Beide Krystallisate sowie das Oxim enthalten Krystallwasser.

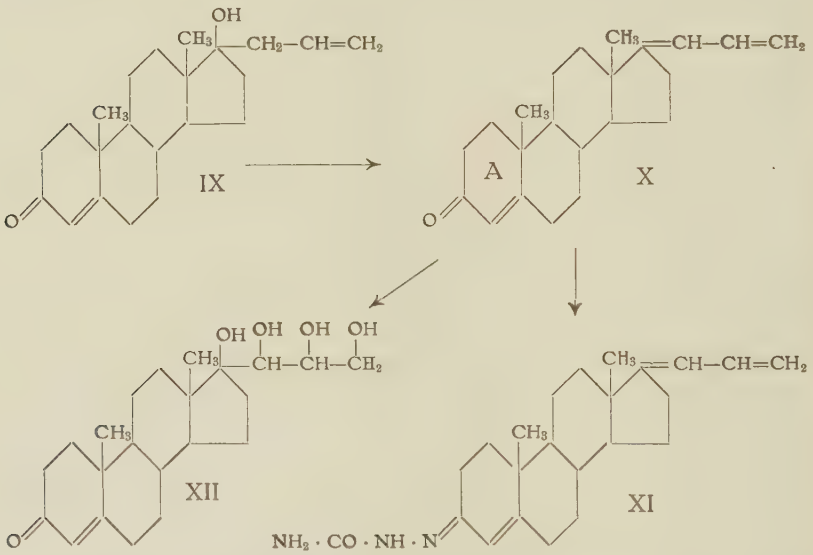
Die Δ^5-Doppelbindung des Androstendiol-Derivates verlagert sich im Verlauf der geschilderten Reaktion analog der Verschiebung der Doppelbindung beim Übergang von Δ^5- zum Δ^4-Äthyl-testosteron im sauren Medium (5) in die Δ^4-Stellung.

II

Die gute Ausbeute (80%), mit der Allyl-testosteron (IX) in der beschriebenen Weise zugänglich ist, ließ diese Substanz geeignet erscheinen, als Basis für weitere Umwandlungen an der Seitenkette zu dienen. Gelang es, in Konjugation zur vorhandenen Doppelbindung eine neue einzuführen und in diesem Molekül dann durch Addition vier Hydroxylgruppen anzulagern, so mußte sich ein Stoff ergeben, bei dem Wasserlöslichkeit zu vermuten war. Bei hormonwirksamen Stoffen ist die Wasserlöslichkeit von hervorragender Bedeutung für ihre therapeutische Anwendung.

a) Wasserabspaltung (X) aus 17-Allyl-testosteron (IX).

Erhitzt man 17-Allyl-testosteron (IX) mit Phosphoroxychlorid in Gegenwart von Pyridin, so spaltet es ein Mol. Wasser ab und geht in ein dreifach ungesättigtes Keton $C_{22}H_{30}O$ (X) über. Das günstigste Ergebnis wurde bei Anwendung von Phosphoroxychlorid und Pyridin im Volumenverhältnis 1:20 bei einer Einwirkungsdauer von 20 Min. erzielt. Bei höheren Konzentrationen und verkürzter Reaktionszeit ergaben sich unlösliche, phosphorylierte Substanzen als



Nebenprodukte, die die Ausbeute ungünstig beeinflußten. Zu demselben, aber anfangs erheblich unreineren Dehydratationsprodukt gelangt man — jedoch mit niedrigerer Ausbeute — auch durch Destillation über entwässertem Kupfersulfat im Hochvakuum. ++ In Übereinstimmung mit analogen Versuchen am Äthyl-testosteron (18) gelingt die Wasserabspaltung auch an diesem Testosteronderivat nicht mit Schwefelsäure.

Das erhaltene dreifach ungesättigte Keton (X) ist durch eine Konjugation zweier Doppelbindungen in der Seitenkette und eine α,β-ungestättigte Ketongruppierung im Ring A ausgezeichnet. In voller Übereinstimmung mit dieser Konstitution stehen die von Herrn Dr. Dannenberg gemessenen Absorptionsspektren des Ketons und seines Semicarbazons (XI) (siehe Abb. 1):

Das Trienketon (X) zeigt ein ausgesprochenes Absorptionsmaximum bei 236 mμ (in Äther), dessen absolute Höhe ($\varepsilon = 42\,600\ cm^{-1}$) — entsprechend zwei voneinander unabhängigen, nicht völlig gleichwertigen Konjugationen — den weitaus größeren Wert besitzt wie im Falle des nur eine Konjugation enthaltenden Testosterons ($\varepsilon =$

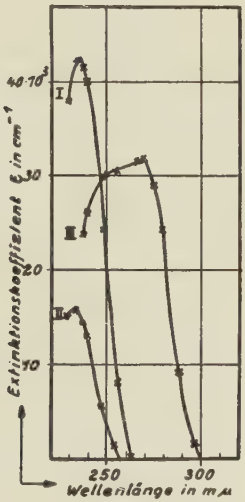


Abb. 1.

I: Trienketon (X) (in Äther)
II: Testosteron (in Äther)
III: Trienketon-semicarbazon (XI) (in $CHCl_3$)

$$\text{Extinktionskoeffitient } \varepsilon = \frac{M}{c \cdot d} \log \frac{I}{I_0} \text{ cm}^{-1}$$

M = Molgewicht; c = Konzentration in gr/l; d = Schichtdicke in cm.

15 600 cm^{-1} bei 233 mμ in Äther). Das Absorptionsspektrum des Trienketonsemicarbazons (XI) zeigt einen Verlauf, der der Addition zweier Kurvenzüge entspricht, von denen der eine sich der α,β-ungesättigten Semicarbazongruppierung, der andere dem konjugierten System der Seitenkette zuordnen läßt; diese Auffassung wird klar belegt durch den Vergleich der in Abb. 2 wiedergegebenen Kurven:

Man erkennt, daß man einen der Absorptionskurve des Trienketon-semicarbazons (XI) ähnlichen Kurvenzug erhält, wenn man beispielsweise die Absorptionskurven des Δ^4-Androstendions und seines 3-Monosemicarbazons (22) addiert. Es kann sich dabei nur um eine Näherung handeln, da die Konjugation der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen der Seitenkette der α,β-ungesättigten Ketongruppierung des Androstendions nicht völlig gleichzuordnen ist.

b) Oxydation des Trienketons (X) zum Tetraoxyketon (XII).

Durch Einwirkung von Osmiumtetroxyd nach Criegee (23) auf das Trienketon (X) in ätherischer Lösung, einer Methode, die schon zur Anlagerung zweier Hydroxylgruppen an eine einzelne Doppelbindung von Steroiden angewendet worden war (6, 24), wurde unter Intakthaltung der α,β-Doppelbindung im Ring A (25) eine Addition

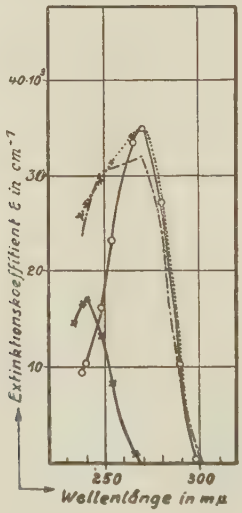


Abb. 2.

I —·—·—·— : Trienketon-semicarbazon (XI)
II —x——x— : Δ^4-Androstendion (3, 17)
III —o——o— : Δ^4-Androstendion-semicarbazon (3)
IV ···x·····x··· : Additionskurve aus II und III
(sämtlich in $CHCl_3$).

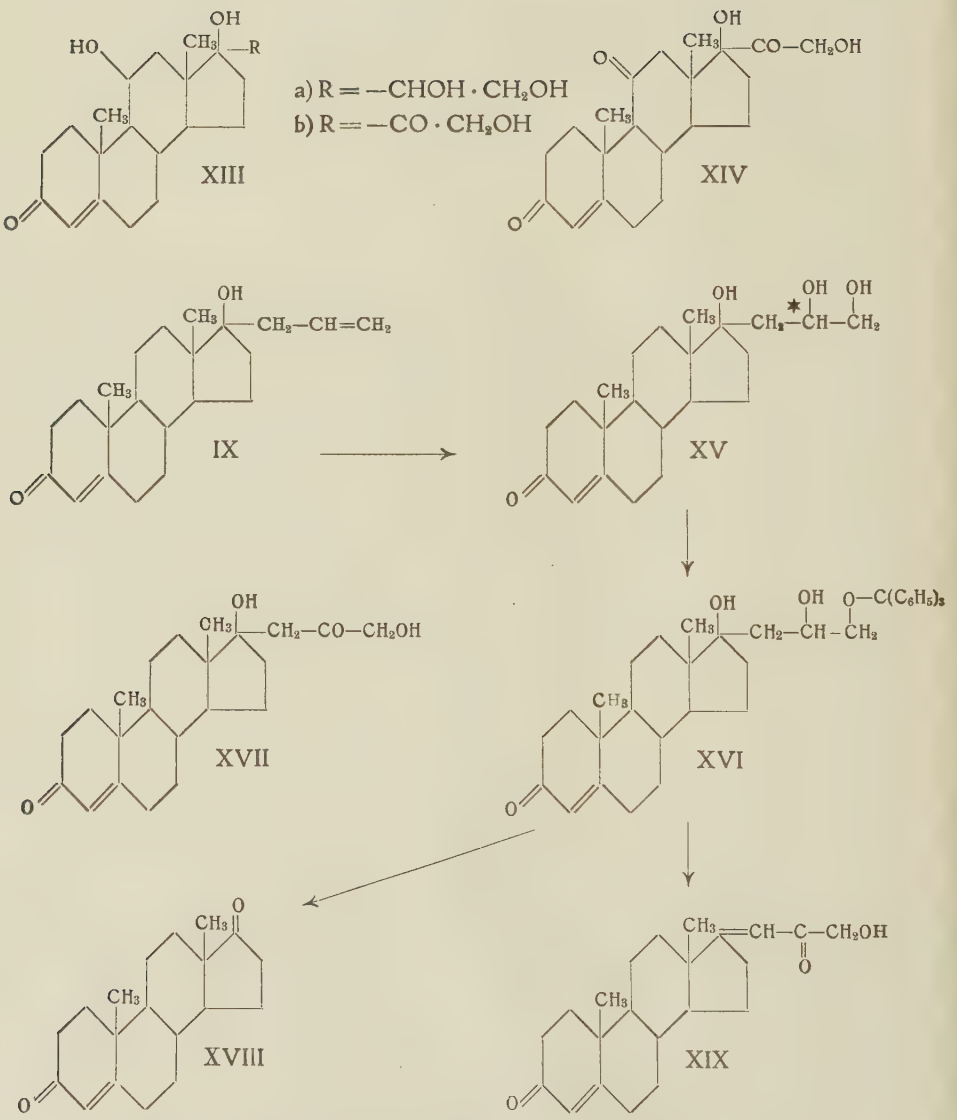
von vier Hydroxylgruppen an die konjugierten Doppelbindungen der Seitenkette erzielt. Dieser Stoff $C_{22}H_{34}O_5$ vom Schmp. 237,5°, dem die Formel XII zuzuordnen ist, ist in organischen Lösungsmitteln schwer, dagegen in heißem Wasser gut löslich, so daß er leicht aus diesem umkrystallisiert werden kann.

III

Durch Anlagerung zweier Hydroxylgruppen an die endständige Doppelbindung des Allyl-testosterons (IX) bot sich die Möglichkeit, sauerstoffreichere Stoffe zu synthetisieren, die höhere Homologe von Inhaltsstoffen der Nebennierenrinde darstellen. Wie die Formeln (S. 12) zeigen, ist das entsprechende Trioxyketon (XV) — abgesehen von der für die Cortinwirksamkeit wahrscheinlich unwesentlichen 11-Oxygruppe — in der Seitenkette nur um eine CH_2-Gruppe reicher als die von Reichstein beschriebene Substanz E (XIIIa). Unter Schutz der primären Hydroxylgruppe am C_{22} des Trioxyketons (XV) mußte eine oxydative Reaktion zur Ketogruppe am C_{21} führen und damit — wiederum unter Außerachtlassung der 11-Oxy- bzw. Oxogruppe — zu einem höheren Homologen der Substanzen M (XIIIb) bzw. Fa (XIV) von Reichstein, die nach den bisherigen Untersuchungen Cortinwirksamkeit aufweisen.

a) Oxydation des 17-Allyl-testosterons (IX) zum Trioxyketon (XV).

Die Umsetzung von Allyl-testosteron (IX) mit Osmiumtetroxyd (23) lieferte zwei Trioxyketone $C_{22}H_{34}O_4$, (a) und (b), denen die Formel XV zuzuschreiben ist, und die sich, wie es sich bei weiteren Umsetzungen zeigte, voneinander nur in der Konfiguration am neu entstandenen Asymmetriezentrum in der Seitenkette unterscheiden. Das höher schmelzende Isomere (a) vom Schmp. 224—225° zeigte eine optische Drehung $[\alpha]_D^{20}$: + 53,9°, das tiefer schmelzende (b) vom Schmp. 198°, das auch in einer bei 168° schmelzenden, labilen Modifikation auftreten kann, $[\alpha]_D^{20}$: + 48,3°.



b) Triphenylmethyläther (XVI) des Trioxyketons (a) (XV) vom Schmp. 224—225°.

Bei der Einwirkung stöchiometrischer Mengen Tritylchlorid auf das höher schmelzende Isomere der Trioxyketone (XV) in Gegenwart

von Pyridin bei Zimmertemperatur wurde in guter Ausbeute ein leicht krystallisierender Trityläther vom Schmp. 197,5° erhalten. Da von drei vorhandenen Hydroxylgruppen nur eine, nämlich die endständige, primär ist — sekundäre bzw. tertiäre reagieren nur sehr schwer bzw. gar nicht — muß man diesem Äther die Formel XVI zuordnen.

Das bei 198° schmelzende Trioxyketon (b) (XV) liefert unter entsprechenden Bedingungen keinen Trityläther; selbst nach 75-stdg. Reaktionsdauer war keine Umsetzung zu beobachten. Ein Versuch, die Reaktion durch 2-stdg. Erhitzen auf dem Wasserbade zu erzwingen, lieferte ebenfalls bei der Aufarbeitung neben Tritanol nur Ausgangsmaterial zurück.

Da nach dem Schutz der primären Hydroxylgruppe nur noch die benachbarte sekundäre Oxygruppe für eine oxydierende Behandlung angreifbar war, erschien durch vorsichtige Oxydation des Tritylätheres und anschließende hydrolytische Abspaltung des Tritylrestes der Übergang zu der endständigen -CO-CH_2OH-Gruppierung, die für die wirksamen Inhaltsstoffe der Nebennierenrinde als charakteristisch erkannt wurde, möglich. Der gesuchte Stoff der Formel XVII hätte neben dieser Konfiguration der Seitenkette auch die im Ring A für die Cortinwirksamkeit offenbar typische α,β-ungesättigte Ketogruppe aufgewiesen. Im Rahmen der Spezifitätsuntersuchungen wäre diese Substanz von Wert gewesen.

Um bei der Hydrolyse das Arbeiten mit Säure zu vermeiden, wurde zuerst die Spaltbarkeit des Tritylathers (XVI) mit Alkali untersucht; jedoch erwies sich der Stoff selbst gegen Kochen mit 10%iger Kalilauge als resistent. Auch mit Eisessig konnte eine hydrolytische Spaltung (26) nicht nachgewiesen werden, was von Bedeutung ist für die weiter unten angeführten oxydativen Eingriffe mit Hilfe von Chromsäure in Eisessig.

c) Oxydation des Tritylathers (XVI) nach Oppenauer (19).

Eine der mildesten Methoden schien in der schon zur Oxydation des Allyl-androstendiols (VIII) verwendeten Dehydrierung nach Oppenauer (19) vorzuliegen. Überraschenderweise führten alle Versuche unter Anwendung von Cyclohexanon in Gegenwart von Aluminium-isopropylat unter radikalem Abbau der Seitenkette zum Δ^4-Androstendion (3, 17) (XVIII); dieses ließ sich leicht von einer ketogruppenfreien, in ihrer Konstitution noch unaufgeklärten Verbindung vom Schmp. 152° (C 80, 57, H 7,78) durch Anwendung des Girard-

Reagens T (27) trennen und durch Schmelzpunkt, Analyse und Mischschmelzpunkt charakterisieren. Der Mechanismus dieser Reaktion ist noch ungeklärt.

Bei der Beurteilung des Ergebnisses ist bemerkenswert, daß durch diese milde Reaktion ein Stoff der noch nicht im Körper aufgefundenen C_{22}-Reihe so glatt — es wurden Ausbeuten von über 40% erzielt — in einen solchen der aus der Natur bekannten C_{19}-Reihe übergeht.

Versuche, einen entsprechenden Abbau am nicht tritylierten Trioxyketon (a) (XV) durchzuführen, mußten wegen dessen Schwerlöslichkeit in unpolaren Lösungsmitteln wie Benzol, Toluol usw. mißlingen. Jedoch wurde auch bei Zusatz von Nitrobenzol [4]), welches das Trioxyketon zu lösen vermochte und eine Erhöhung der Reaktionstemperatur auf etwa 135° gestattete, nur Ausgangsmaterial erhalten.

d) Oxydation des Trityläthers (XVI) mit Chromsäure in Eisessig.

Da der Trityläther (XVI) sich in essigsaurer Lösung als haltbar erwiesen hatte, wurden Versuche angestellt, die Oxydation mit Hilfe von Chromsäure in Eisessig zu bewerkstelligen. Behandelt man den Trityläther 30 Min. mit dem 1½fachen Überschuß an Chromsäure und anschließend zur Hydrolyse des Tritylrestes mit 2%iger methanolischer Salzsäure, so erhielt man ebenfalls nach Anwendung des Girard-Reagens T (27) in einer Ausbeute von 10% einen Stoff vom Schmp. 203—204°, dessen Analyse auf ein Wasserabspaltungsprodukt des gewünschten Diketons (XVII) hindeutete. Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum zeigt (siehe Abb. 3), analog der Kurve des Wasserabspaltungsproduktes (X) von Allyl-testosteron, bei 236 mμ (in Äther) ein Absorptionsmaximum von einer absoluten Höhe von 31 200 cm^{-1}, die genau dem doppelten Werte der des Testoterons (ε = 15 600 cm^{-1} bei 233 mμ in Äther) entspricht. Die sich daran knüpfende Folgerung besagt, daß die Wasserabspaltung in diesem

[4]) Daß sich der Zusatz von Nitrobenzol, das nur als Lösungsmittel fungieren sollte, auf den Reaktionsverlauf nicht schädigend, sondern wegen der Erhöhung der Temperatur beschleunigend auswirkt, wurde vorher am Cholesterin nachgewiesen, das bereits nach 5 Min. Reaktionsdauer beim Vorhandensein der üblichen Reaktionspartner (Aluminum-isopropylat und Cyclohexanon in Toluol) unter Zusatz von Nitrobenzol bei 135° zu 65% zu Δ^4-Cholestenon oxydiert wurde. Bei völligem Ersatz des Cyclohexanons durch Nitrobenzol unter sonst gleichen Bedingungen konnte auch nach 20 Stunden keine oxydative Wirkung nachgewiesen werden. Dem Nitrobenzol kommt demnach nur die Rolle eines die Temperatur steigernden Lösungsmittels zu. Ein Versuch der Oxydation des Trityläthers (XVI) unter Zusatz von Nitrobenzol führte ebenso zu Δ^4-Androstendion (XVIII).

Falle, obwohl es sich um eine Reaktion im sauren Medium handelt (siehe weiter oben), in Konjugation zur schon vorhandenen Doppelbindung der Ketogruppe in C_{21}, also von C_{17} nach C_{20} erfolgt ist (XIX).

Vorausgesetzt, daß Stoffen der C_{22}-Reihe überhaupt eine physiologische Wirksamkeit zu eigen ist, läge damit ein Stoff (XIX) vor, der alle bisher erkannten Charakteristika der cortinwirksamen Substanzen in sich vereinigt, um so mehr als das Fehlen der 17-Hy-

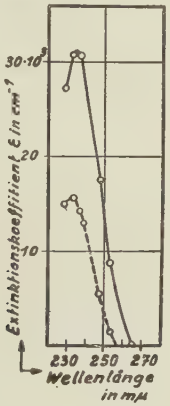


Abb. 3.

—o—o— : Oxydiendiketon (XIX)
——o——o—— : Testosteron
(beide in Äther).

droxylgruppe, die die Wirksamkeit nur herabzusetzen scheint, sich günstig auswirken müßte. Jedoch liegt die Vermutung nahe, daß die semicyclische Doppelbindung der Seitenkette ihrerseits Unwirksamkeit verursacht. Bisher stand für die weitere Charakterisierung und die physiologischen Auswertungen noch nicht genügend Material zur Verfügung.

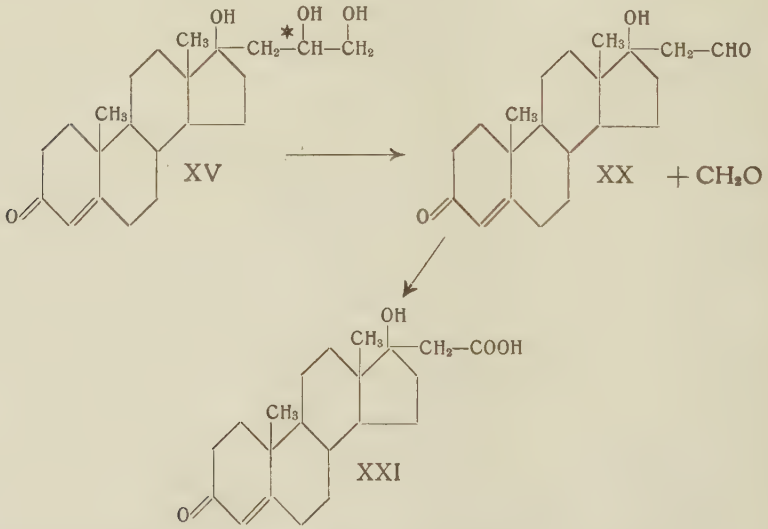
Bei der Hydrolyse des oxydierten Produktes mit alkoholischem Alkali wurden — wie die Vorversuche es erwarten ließen — ebenso wie bei der Aufarbeitung ohne Verseifung keine einheitlichen Ergebnisse erzielt.

Es scheint demnach kaum möglich zu sein, bei Verwendung des Trityläthers (XVI) als Zwischenstufe zu der gewünschten Verbindung der Formel XVII zu gelangen. Die erhaltene, um eine Doppelbindung reichere Substanz (XIX) bietet jedoch die Möglichkeit, durch

selektives Hydrieren dieser Doppelbindung direkt ein höheres Homologes des stark wirksamen Desoxy-corticosterons (IV) zu synthetisieren, was weiteren Versuchen vorbehalten bleibt.

IV

Eine Möglichkeit, den Übergang in die C_{21}-, die Pregnan-Reihe, zu bewerstelligen, bot sich durch die Spaltbarkeit der Glykolgruppierung der Trioxyketone (a) und (b) (XV). Es wurde dabei mit dem Auftreten einer Aldehydgruppe gerechnet, die ihrerseits z. B. durch Hydrierung weiter abwandelbar sein mußte.



a) Oxydative Spaltung des Trioxyketons (XV) mit Bleitetraacetat bei Luftabschluß.

Die Verkürzung der Seitenkette des Trioxyketons (XV) um ein Kohlenstoffatom wurde durch Umsetzung mit Bleitetraacetat nach Criegee (28) erzielt. Da der dabei neben Formaldehyd in guter Ausbeute entstehende Oxyketoaldehyd $C_{21}H_{30}O_3$ (XX) vom Schmp. 142—143° in unreiner Form sehr unbeständig ist, gelingt die Reaktion nur in benzolischer Lösung bei völligem Abschluß von Luft. Der erhaltene Aldehyd der C_{21}-Reihe ist in reinem Zustand einige Zeit auch an der Luft haltbar und zeichnet sich durch stark reduzierende

Eigenschaften aus; charakterisiert wurde er durch sein Dioxim, das in krystallwasserhaltiger Form bei 141°, in reinem Zustand bei 208 bis 210° (Zers.) schmilzt. Das Krystallwasser ist so fest gebunden, daß es sich erst durch Trocknen im Hochvakuum bei einer Temperatur oberhalb des ersten Schmelzpunktes entfernen läßt.

b) Oxydative Spaltung des Trioxyketons (XV) mit Bleitetraacetat bei Luftzutritt.

Bei Verzicht auf Luftabschluß wurde ebenso in benzolischer wie in essigsaurer Lösung eine Substanz vom Schmp. 162° (Zers.) erhalten, deren Analyse und Molekulargewichtsbestimmung im Verein mit dem beim Schmelzen auftretenden Gasaustritt auf die entsprechende Säure (XXI) hindeuten. Jedoch ließ sich die Carboxylgruppe weder durch eine Veresterung mit Diazomethan in ätherischer — die Löslichkeit in Äther ist sehr gering — oder methanolischer Lösung noch durch die Bildung eines Natrium- oder Kaliumsalzes nachweisen.

Arbeitet man beim Umkrystallisieren des Aldehydes (XX) unter Luftzutritt, so kann man die Bildung der Säure am fortlaufenden Ansteigen des Schmelzpunktes unter zunehmenden Zersetzungserscheinungen verfolgen, da die beiden Substanzen keine Mischschmelzpunktserniedrigung miteinander zeigen.

Gemische der beiden Stoffe kann man leicht durch Extraktion mit Äther, in dem die Säure leichter löslich ist, trennen.

Des öfteren wurden beim Arbeiten unter Luftzutritt aus den Mutterlaugen kleine Mengen schlecht ausgebildeter Krystalle erhalten, die bereits auf dem Wasserbade unter Blasenbildung schmolzen und sich beim Aufgießen von Lösungsmittel unter Gasaustritt zersetzten. Es liegt die Vermutung nahe, daß es sich dabei um ein intermediär gebildetes Aldehyd-Peroxyd nach dem Schema

$$R - CHO \ldots O_2 \ldots OHC - R$$

handelt.

Erwartungsgemäß lieferten die beiden oben beschriebenen stereoisomeren Trioxyketone (a) und (b) (XV) denselben Aldehyd (XX). Dadurch ist erwiesen, daß beide Verbindungen sich nur durch Epimerie am vorletzten Kohlenstoffatom der Seitenkette unterscheiden.

Bezogen auf Dehydro-androsteron-acetat (VIIa) beträgt die Rohausbeute an Aldehyd (XX) über alle Zwischenstufen fast 50%, was weitere Versuche zur Abwandlung dieses Stoffes rechtfertigt. Durch die Reaktionsfähigkeit der Aldehydgruppe eröffnet sich — z. B. durch Hydrierung — die Möglichkeit zur weiteren Abwandlung. Darüber

hinaus scheint durch die Nachbarstellung zur Aldehydfiguration auch die CH_2-Gruppe des C_{20}-Kohlenstoffatoms angreifbar. Versuche mit dem Ziel der Abwandlung des Aldehyds (XX) in der skizzierten Richtung sind in Aussicht genommen.

Physiologische Auswertungen.

Einige bisher durchgeführte physiologische Auswertungen der C_{22}-Steroide haben folgende Ergebnisse gezeitigt: Allyl-androstendiol (VIII), Allyl-testosteron (IX), das Trienketon (X), das Tetraoxyketon (XII) sowie die beiden epimeren Trioxyketone (XV) haben mit $5\times100\ \gamma$ im Fußgänger-Test am Kapaunenkamm und mit $4\times500\ \gamma$ im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus keine Keimdrüsenhormonwirkung gezeigt. Das Tetraoxyketon (XII) und die Trioxyketone (a) und (b) der Formel XV sind mit täglich 5 mg ohne jede Cortinwirksamkeit an der nebennierenlosen Katze.

Experimenteller Teil.

17-Allyl-Δ^5-androstendiol (3, 17) (VIII) (9).

0,5 g geschmirgeltes Magnesiumband wurden mit 5 ccm Äther und 0,5 ccm Allylbromid (Sdp. 70—71°, getrocknet) in der Kälte angeätzt und nach dem Abgießen der Flüssigkeit mit 10 ccm Äther und innerhalb von 75 Min. tropfenweise mit einer Lösung von 1 g Dehydro-androsteron-acetat (VIIa) und 1,5 ccm Allylbromid in 11 ccm Äther versetzt. Während der Reaktion wurde kräftig geschüttelt und alle 20 Min. etwas neues Magnesium hinzugegeben, um die eingeschlossenen Reste zu ersetzen. Unter den angegebenen Bedingungen verlief die Umsetzung ohne äußeres Erwärmen. Nach ½-stdg. Kochen der Reaktionslösung wurde der Äther abdestilliert und der Rückstand mit Eis und 10%iger Salzsäure zersetzt. Der entstandene Niederschlag von Allyl-androstendiol (VIII) wurde nach dem Abfiltrieren und Waschen mit Wasser aus Aceton und schließlich aus Essigester umgelöst. Es wurden in einer Ausbeute von 88% kleine Nadeln erhalten. Schmp. 151°, $[\alpha]_D^{20}$: — 42,2° (in Alkohol).

5,178 mg Sbst. (bei 75° im Hochvak. getr.):
15,120 mg CO_2, 4,730 mg H_2O.
$C_{22}H_{34}O_2$. Ber. C 79,95, H 10,37. Gef. 79,67, H 10,22.

Zur weiteren Verarbeitung genügte das nicht umkrystallisierte Fällungsprodukt (Schmp. 144—145°), das in quantitativer Ausbeute erhalten wurde.

Acetat des 17-Allyl-androstendiols (9).

Das durch Umsetzung von Allyl-androstendiol (VIII) mit Essigsäureanhydrid und Pyridin durch 12-stdg. Stehenlassen bei 20° erhaltene 3-Monoacetat wurde mit Wasser gefällt und mehrfach aus Hexan umgelöst; Nadeln vom Smp. 154°.

4,742 mg Sbst.: 13,425 mg CO_2, 4,100 mg H_2O.
$C_{24}H_{36}O_3$. Ber. C 77,38, H 9,74. Gef. C 77,25, H 9,68.

Wasserabspaltungsprodukt aus Allyl-androstendiol (VIII).

100 mg Allyl-androstendiol (VIII) wurden in 3 ccm absol. Alkohol gelöst und mit 1,5 ccm 10-n-Schwefelsäure 30 Min. gekocht, in Wasser gegeben und ausgeäthert. Nach dem Waschen der ätheri-

schen Lösung mit Sodalösung und Wasser und anschließendem Trocknen wurde das Wasserabspaltungsprodukt durch Krystallisieren aus wässrigem Aceton in langen Nadeln vom Schmp. 141,5° erhalten. Ausbeute 70%.

4,521 mg Sbst.: 13,985 mg CO_2, 4,130 mg H_2O.

$C_{22}H_{32}O$. Ber. C 84,56, H 10,32. Gef. C 84,38, H 10,22.

5,6,21,22-Tetrabrom-17-allyl-androstanol (17)-on (3) (9).

200 mg Allyl-androstendiol (VIII) wurden in 5 ccm Eisessig gelöst und nach kurzem Zutropfen einer Lösung von 193,5 mg Brom (entspr. 4 Atomen) in 2 ccm Eisessig, die glatt entfärbt wurde, langsam mit einer Lösung von 121 mg Chromsäure (3-facher Überschuß) in etwa 5 ccm Eisessig versetzt. Danach wurde 30 Min. bei 20° stehen gelassen, in Wasser gegeben und der Niederschlag im Exsiccator getrocknet.

Dieses Tetrabrom-oxydationsprodukt zersetzte sich beim Erhitzen bei 90° und beim Lösen in Benzol, Chloroform, Dioxan, Essigester, Aceton, Äther und Eisessig, nicht aber in Alkohol und Methanol, in denen es sich in der Kälte ohne Zersetzungserscheinungen löst.

17-Allyl-testosteron (IX).

1,4 g Allyl-androstendiol (VIII) und 1,4 g Aluminium-isopropylat wurden mit 11,2 ccm Cyclohexanon und 70 ccm absol. Toluol 40 Min. im Sieden gehalten; die Reaktionslösung wurde mit Wasserdampf destilliert und die nicht flüchtigen Anteile wurden mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen und eingedampft. Der Abdampfrückstand ergab nach dem Umlösen aus verd. und absol. Alkohol 17-Allyl-testosteron (IX) in Nadeln vom Schmp. 105—107,5°. Ausbeute 80%.

Die Substanz hält hartnäckig Krystallwasser fest. Die Analysen der lufttrockenen Substanz deuten auf einen Krystallwassergehalt von ½ Mol. Frei von Lösungsmittel erstarrt die Substanz nach Destillation im Hochvakuum glasig.

3,434 mg Sbst. (5 Stdn. im Exsiccator getr.):
9,870 mg CO_2, 3,040 mg H_2O

$C_{22}H_{32}O + ½ H_2O$. Ber. C 78,29, H 9,86.
Gef. C 78,42, H 9,91.

Beim Krystallisieren der intensiv getrockneten Substanz aus Essigester wurden zunächst Nadeln erhalten, die sich beim Stehenlas-

sen unter dem Lösungsmittel bei Zimmertemperatur in hexagonale Prismen von Schmp. 93° umwandelten. Diese niedrig schmelzende Modifikation entsteht auch beim Umlösen aus reinem Aceton.

2,810 mg Sbst. (bei 56° im Vak. getr.):
8,090 mg CO_2, 2,510 mg H_2O.
$C_{22}H_{32}O_2 + \frac{1}{2} H_2O$. Ber. C 78,29, H 9,86.
Gef. C 78,55, H 10,00.

Oxim des 17-Allyl-testosterons (IX).

Das durch 1-stdg. Kochen von Allyl-testosteron (IX) und Hydroxylaminacetat in alkoholischer Lösung erhaltene Oxim wurde aus Alkohol/Wasser umgelöst. Schmp. 144—146°. Es krystallisiert in Rhomboedern ebenfalls mit Krystallwasser.

3,624 mg Sbst.: 0,125 ccm N (24,5°, 756 mm). —
2,944 mg Sbst.: 8,090 mg CO_2, 2,620 mg H_2O.
$C_{22}H_{33}O_2N + \frac{1}{2} H_2O$. Ber. C 74,95, H 9,72, N 3,97.
Gef. C 74,97, H 9,96, N 3,94.

Wasserabspaltung (X) aus 17-Allyl-testosteron (IX).

100 mg Allyl-testosteron (IX) wurden mit 0,25 ccm Phosphoroxychlorid und 5 ccm Pyridin 20 Min. zum Sieden erhitzt und anschließend in viel Eiswasser gegeben. Bei allmählicher Zugabe der für die Neutralisation des Pyridins berechneten Menge konz. Salzsäure fiel das Wasserabspaltungsprodukt (X) in kleinen Nadeln aus. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen wurde es aus wässrigem Alkohol nach vorherigem Aufkochen mit Tierkohle in flachen Nadeln erhalten, die nach dem Umlösen aus absol. Alkohol und Essigester bei 172—174° schmolzen. Absorptionsspektrum siehe Abb. 1. Ausbeute 62%.

4,405 mg Sbst. (bei 75° im Hochvakuum getr.):
13,665 mg CO_2, 3,810 mg H_2O.
$C_{22}H_{30}O$. Ber. C 85,09, H 9,74. Gef. C 84,64, H 9,68.

Versuche, die Dehydratisierung mithilfe der dreifachen Menge entwässerten Kupfersulfats im Hochvakuum bei 85—130° durchzuführen, ergaben dasselbe Wasserabspaltungsprodukt (X), jedoch in geringerer Reinheit und mit schlechterer Ausbeute.

Semicarbazon (XI) des Wasserabspaltungsproduktes (X).

Das durch 1-stdg. Kochen des Wasserabspaltungsproduktes (X) mit Semicarbazid-acetat in alkoholischer Lösung erhaltene Semicar-

bazon (XI) wurde aus Alkohol und Chloroform, in denen es nur sehr schwer löslich ist, mehrfach umgelöst. Es krystallisiert in Quadern, die bis 365° nicht schmelzen; bei etwa 250° beobachtet man eine sehr geringe Braunfärbung. Absorptionsspektrum siehe Abb. 1 und 2.

2,820 mg Sbst.: 0,264 ccm N (19°, 752 mm).
$C_{23}H_{33}ON_3$. Ber. N 11,43. Gef. N 10,83.

Oxydation des Trienketons (X) zum Tetraoxyketon (XII).

100 mg des Wasserabspaltungsproduktes (X) wurden in 12 ccm absol. Äther gelöst und mit 18,2 ccm (entspr. 2,2 Mol.) einer absol. ätherischen Osmiumtetroxyd-Lösung (1 g OsO_4 in 100 ccm absol. Äther) versetzt. Nach 80-stdg. Stehenlassen bei etwa 20° wurde der Äther im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit einer Lösung von 2 g Natriumsulfit in 20 ccm Wasser und 10 ccm Alkohol 3 Stdn. gekocht. Der entstandene Niederschlag wurde nach dem Abfiltrieren mehrmals mit Alkohol ausgekocht; die alkoholischen Filtrate wurden im Vakuum konzentriert, mit dem ursprünglichen Filtrat vereinigt und wiederholt mit Chloroform ausgeschüttelt. Der trockne Rückstand der Chloroformlösung wurde in Alkohol aufgenommen, aus dem nach dem Aufkochen mit Tierkohle das Tetrol (XII) in einer Ausbeute von 13,5% in prismatischen Nadeln vom Schmp. 237,5° erhalten wurde. In Chloroform, Essigester, Methanol, Aceton, Alkohol ist die Substanz schwer löslich, ebenso in kaltem Wasser; in heißem ist sie löslich.

2,822 mg Sbst.: 7,270 mg CO_2, 2,310 mg H_2O.
$C_{22}H_{34}O_5$. Ber. C 69,81, H 9,06. Gef. C 70,28, H 9,16.

Oxydation des 17-Allyl-testosterons (IX) zum Trioxyketon (XV).

2 g Allyl-testosteron (IX) wurden in 120 ccm absol. Äther gelöst und mit 168 ccm einer absol. ätherischen Osmiumtetroxydlösung (1 g OsO_4 in 100 ccm absol. Äther) versetzt. Nach 48-stdg. Stehenlassen bei etwa 20° wurde der Äther im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit einer Lösung von 15 g Natriumsulfit in 150 ccm Wasser und 75 ccm Alkohol 2 Stdn. gekocht. Der entstandene Niederschlag wurde noch mehrfach mit Alkohol ausgekocht und alle vereinigten Filtrate mit Chloroform ausgeschüttelt. In einer Ausbeute von 70,5% ließ sich hieraus ein Gemisch von zwei Reaktionspartnern (a) und (b) (XV) erhalten, die sich durch ihre verschiedene Lös-

lichkeit in Chloroform, Chloroform-Essigester und Aceton trennen ließen:

Die schwerer lösliche Komponente (a) besteht aus Prismen vom Schmp. 224—225° und einer optischen Drehung $[\alpha]_D^{20}$: + 53,9°.

3,266 mg Sbst. (aus Chloroform-Essigester, bei 75° im Hochvak. getr.): 8,680 mg CO_2, 2,760 mg H_2O.
$C_{22}H_{34}O_4$. Ber. C 72,89, H 9,46. Gef. C 72,51, H 9,46.

Die leichter lösliche Komponente (b) besteht aus Quadern vom Schmp. 198°, die auch in einer bei 168° schmelzenden, labilen Modifikation auftreten können. $[\alpha]_D^{20}$: + 48,3°.

4,442 mg Sbst. (aus Chloroform-Essigester, bei 75° im Hochvak. getr.): 11,850 mg CO_2, 3,700 mg H_2O.
$C_{22}H_{34}O_4$. Ber. C 72,89, H 9,46. Gef. C 72,79, H 9,32.

Triphenylmethyläther (XVI) des Trioxyketons (a) (XV) vom Schmp. 224—225°.

250 mg des Trioxyketons (XV) vom Schmp. 224—225° wurden mit 194 mg (entspr. 1 Mol.) Tritylchlorid in 1,2 ccm trocknem Pyridin 48 Stdn. bei Zimmertemperatur aufbewahrt und langsam unter kräftigem Rühren in Eiswasser getropft. Es entstand ein flockiges, gut filtrierbares Fällungsprodukt, das gründlich mit Wasser gewaschen und in Äther aufgenommen wurde. Die ätherische Lösung lieferte nach dem Waschen mit Wasser, Trocknen und Eindampfen einen Rückstand, der aus verd. Methanol und Essigester in Blättchen vom Schmp. 197,5° krystallisierte. Ausbeute 62%.

3,656 mg Sbst.: 10,910 mg CO_2, 2,620 mg H_2O.
$C_{41}H_{48}O_4$. Ber. C 81,42, H 8,00. Gef. 81,42, H 8,02.

Das bei 198° schmelzende Trioxyketon (b) (XV) liefert unter entsprechenden Bedingungen keinen Trityläther, selbst nach 75-stdg. Reaktionsdauer war keine Umsetzung zu beobachten. Ein Versuch, die Reaktion durch 2-stdg. Erwärmen auf dem Wasserbad zu erzwingen, lieferte ebenfalls Ausgangsmaterial zurück.

Oxydation des Tritylathers (XVI) nach Oppenauer (19).

200 mg Trityläther (XVI) und 120 mg Aluminiumisopropylat wurden in 1 ccm Cyclohexanon und 9 ccm absol. Toluol 30 Min. im schwachen Sieden gehalten; anschließend wurde mit Wasserdampf destilliert, der Destillationsrückstand in Äther aufgenommen und mit

verd. Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen. Der Abdampfrückstand der ätherischen Lösung wurde mit 300 mg Girard-Reagens T (27) in 9 ccm absol. Alkohol und 1 ccm Eisessig 45 Min. gekocht; die Reaktionslösung wurde in Wasser gegossen, das 0,9 g Ätzkali enthielt, und zur Entfernung nicht kondensierter Anteile mit Äther ausgeschüttelt. Diese ätherische Lösung ergab nach gründlichem Waschen mit Sodalösung und Wasser eine ketonfreie Substanz unbekannter Konstitution, die aus Aceton in einer Ausbeute von 16 mg in drusenförmig zusammengesetzten, sechsseitigen Tafeln vom Schmp. 152° krystallisierte.

4,353 mg Sbst.: 12,855 mg CO_2, 3,060 mg H_2O.
Gef. C 80,57, H 7,87.

Die verbliebene wässrige Lösung wurde mit 5 ccm konz. Schwefelsäure versetzt, 12 Stdn. stehen gelassen und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und getrocknete ätherische Lösung lieferte nach dem Verdampfen des Äthers einen aus Essigester-Hexan in Nadeln krystallisierenden Rückstand vom Schmp. 169°, der sich durch Analyse und Mischschmelzpunkt als Δ^4-Androstendion (3,17) identifizieren ließ. Ausbeute 42%.

2,225 mg Sbst.: 6,470 mg CO_2, 1,870 mg H_2O.
$C_{19}H_{26}O_2$. Ber. C 79,66, H 9,16. Gef. C 79,34, H 9,41.

Oxydation nach Oppenauer am Cholesterin unter Zusatz von Nitrobenzol.

500 mg Cholesterin wurden in 4,5 ccm Cyclohexanon gelöst und so zu einer heißen Lösung von 500 mg Aluminiumisopropylat in 11 cm Toluol und 5 ccm Nitrobenzol gegeben. Nach 5 Min. langem Erhitzen im Paraffinbad auf eine Siedetemperatur von etwa 135° wurde die Reaktionslösung mit Waserdampf destilliert und die nicht flüchtigen Anteile mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand ergab, umgelöst aus wässrigem Aceton, in einer Ausbeute von 65% Δ^4-Cholestenon vom Schmp. 79—80°.

Oxydation des Trityläthers (XVI) mit Chromsäure in Eisessig.

200 mg Trityläther (XVI) wurden in 5 ccm Eisessig gelöst und eine Lösung von 33,06 mg Chromsäure (1,5-facher Überschuß) in 1,2 ccm Eisessig zugetropft und 30 Min. stehen gelassen. Durch an-

schließendes Einschütten in Wasser wurde eine ölige Fällung erhalten, die ausgeäthert wurde. Die ätherische Lösung wurde mit Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Abdampfrückstand wurde mit 6 ccm 2%-iger methanolischer Salzsäure versetzt und 30 Min. gekocht. Durch neuerliches Fällen in Wasser und Wiederholen der soeben geschilderten Manipulationen wurde das aus der Hydrolyse resultierende Substanzgemisch als Öl erhalten. Dieses wurde mit 300 mg Girard-Reagens T (27) in 9 ccm absol. Alkohol und 1 ccm Eisessig 45 Min. gekocht, sodann in Eiswasser gegeben, das 0,9 g Ätzkali enthielt und zur Entfernung ketonfreier Anteile ausgeäthert. Die wässrige Lösung wurde mit 5 ccm konz. Schwefelsäure versetzt, über Nacht stehen gelassen und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und getrocknete Lösung lieferte nach dem Abdampfen in einer Ausbeute von 10% das Oxydien-diketon (XIX), das nach dem Umkrystallisieren aus Essigester-Hexan, wässrigem Methanol und sehr verdünntem Alkohol bei 203—204° schmolz. Absorptionsspektrum siehe Abb. 3.

2,415 mg Sbst.: 6,805 mg CO_2, 1,960 mg H_2O.
$C_{22}H_{30}O_3$. Ber. C 77,14, H 8,83. Gef. C 76,88, H 9,08.

Oxydative Spaltung des Trioxyketons (XV) mit Bleitetraacetat.

100 mg Trioxyketon (XV) vom Schmp. 224—225° (a) bzw. vom Schmp. 198° (b) wurden mit 20 ccm luftfreiem, trocknem Benzol übergossen und im Wasserbad auf 45° erhitzt. Hierzu wurden 125 mg über Calciumchlorid und Ätznatron vom Eisessig befreites Bleitetraacetat gegeben und bei derselben Temperatur unter Überleiten von Stickstoff etwa 15 Min. intensiv geschüttelt, bis angefeuchtetes Kaliumjodid-Stärke-Papier nicht mehr gebläut wurde. Es trat ein starker Geruch nach Formaldehyd auf. Die Benzollösung wurde sodann unter Stickstoff durch Filtration vom gebildeten Bleidiacetat getrennt und im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand krystallisierte beim Übergießen mit luftfreiem Äther; durch Umlösen aus luftfreiem Essigester unter Stickstoff wurden 80 mg (entspr. 88%) Aldehyd (XX) in prismatischen Nadeln vom Schmp. 142—143° erhalten. Der Aldehyd ist in Hexan und Äther sehr schwer, in Benzol leichter, in Chloroform, Alkohol, Aceton und Essigester sehr leicht löslich; er reduziert ammoniakalische Silberlösung.

2,969 mg Sbst.: 8,285 mg CO_2, 2,490 mg H_2O.
$C_{21}H_{30}O_3$. Ber. C 76,32, H 9,15. Gef. C 76,14, H 9,38.

Wurde entsprechend obiger Methodik, jedoch unter Verwendung nicht luftfreier Lösungsmittel und bei Zutritt von Luft gearbeitet, so wurde (ebenso wie bei der Anwendung von Eisessig als Reaktionsmedium) die durch Oxydation des Aldehyds (XX) entstandene Säure (XXI) erhalten. Sie krystallisiert nach dem Umlösen aus Aceton-Wasser und Essigester oder aus Methanol-Wasser in blättchenförmigen Nadeln vom Schmp. 162° (Zers.).

3,451 mg Sbst. (bei 75° im Hochvak. getr.):
9,200 mg CO_2, 2,740 mg H_2O.
2,498 mg Sbst.: 6,675 mg CO_2, 1,950 mg H_2O.
$C_{21}H_{30}O_4$. Ber. C 72,78, H 8,73. Gef. C 72,74, 72,90, H 8,88, 8,73.

0,211 mg Sbst. in 3,020 mg Kampfer: 7,9°,
0,205 mg Sbst. in 2,614 mg Kampher: 8,9°.
$C_{21}H_{30}O_4$. Ber. Mol.-Gew. 346,5. Gef. 354, 353.

Dioxim des Aldehyds (XX).

Frisch hergestellter Aldehyd (XX) wurde sofort unter Stickstoff mit einer alkoholischen Lösung von Hydroxylaminacetat 2 Stdn. gekocht. Das Dioxim wurde mit Wasser gefällt, gründlich gewaschen und mehrfach aus wässrigem Äthanol, Aceton und Methanol umgelöst. Es bildet schöne, lange, Krystallwasser enthaltende Nadeln, die bei 141° unter Gasentwicklung schmelzen, je nach dem Erhitzen zwischen 175° und 185° von neuem krystallisieren, um bei 208—210° endgültig unter Zersetzung zu schmelzen.

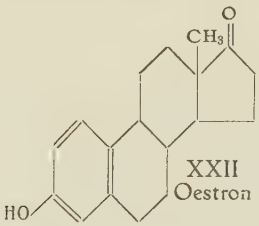
2,503 mg Sbst. *(5 Stdn. im Exsiccator getr.):*
0,155 ccm N (20,5°, 757 mm).
4,612 mg Sbst. *(5 Stdn. im Exsiccator getr.):*
11,280 mg CO_2, 3,800 mg H_2O.
$C_{21}H_{32}O_3N_2 + H_2O$. Ber. C 66,64, H 9,05, N 7,40.
Gef. C 66,73, H 9,22, N 7,17.
2,522 mg Sbst. *(bei 145° im Hochvak. getr.):*
0,167 ccm N (20°, 750 mm).
4,207 mg Sbst. *(bei 145° im Hochvak. getr.):*
10,780 mg CO_2, 3,380 mg H_2O.
$C_{21}H_{32}O_3N_2$. Ber. C 69,96, H 8,95, N 7,77.
Gef. C 69,92, H 8,99, N 7,62.

II. Teil

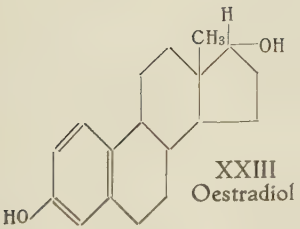
Zur Kenntnis der oestrogenen Stoffe in der Steinkohle.

Einleitung.

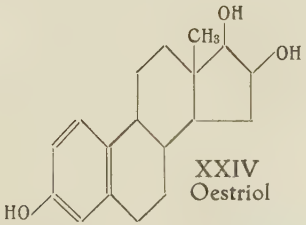
Das Vorkommen von Stoffen, die oestrogene (Follikelhormon-) Wirkung entfalten, ist — wie schon früh erkannt wurde — durchaus nicht an den Organismus der höheren Tiere gebunden. Im physiologischen Test konnte bewiesen werden, das brunsterregende Substanzen auch in der niederen Tierwelt und im Pflanzenreich weit verbreitet sind (29, 30, 31). Die Oestrus erzeugende Wirkung aus solchem Material gewonnener Extrakte muß jedoch keineswegs an das Vorhandensein von Follikelhormon (Oestron) (XXII) oder verwandter Stoffe geknüpft sein. Zum Beispiel vermögen synthetisch aufgebaute, organische Stoffe der verschiedensten Zusammensetzung



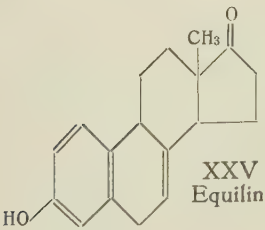
XXII
Oestron



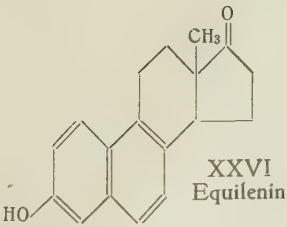
XXIII
Oestradiol



XXIV
Oestriol



XXV
Equilin



XXVI
Equilenin

am Versuchstier Volloestrus auszulösen und zwar auch mit Dosierungen, die durchaus in der Größenordnung der der Vertreter der Oestron-Gruppe (z. B. XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVI) liegen (30, 31).
Es ist also das Auftreten dieser physiologischen Wirkung nicht ein Kriterium für das Vorhandensein von Keimdrüsenhormonen sondern lediglich ein Mittel zur Verfolgung der Anreicherung bei der Aufarbeitung solcher Extrakte. Immerhin muß man aber mit Vertretern der Oestrongruppe auch im Pflanzenreich rechnen, wie die Isolierung des Follikelhormons aus Palmkernextrakten von Butenandt und Jacobi (32) und die des Oestriols (Follikelhormonhydrat) (XXIV) aus Weidenblüten von Skarzynski (33) zeigen. Aschheim und Hohlweg (34) fanden die oestrogene Wirkung von Bitumen, darunter auch die der Steinkohle. Es wird vermutet, daß in diesem Falle die oestrogenen Substanzen aus dem Urmaterial der Bitumen — pflanzlichen und tierischen Resten — stammen.

I.

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der näheren Charakterisierung des wirksamen Prinzips der Steinkohle, bei der man auch mit dem Vorhandensein oestrogen wirksamer, höherer Aromaten rechnen mußte, wie man sie z. B. in Benzpyren oder in Derivaten des 1, 2, 5, 6-Dibenzanthracens, also aus der Reihe der synthetischen Brunststoffe, kennt. Nach Angaben der genannten Autoren enthält Steinkohle den wirksamen Stoff ungefähr in einer Konzentration von einer „Mäuse-Einheit" pro Gramm (1 ME/g), wobei 1 ME die Menge darstellt, die gerade ausreicht, bei einer kastrierten Maus nach subkutaner Injektion innerhalb von 2—3 Tagen Volloestrus auszulösen.

Bei Beginn der Arbeit lagen bereits von Hanisch (35) Untersuchungen in der gekennzeichneten Richtung vor. Als Ausgangsmaterial diente dabei ein von der Schering A.-G., Berlin, bereiteter methanolischer Auszug aus 250 kg Steinkohle, dessen ätherlöslicher Teil (190 g) eine Wirksamkeit von 1000 ME/g zeigte. Es war gelungen, daraus ein Präparat mit der 10-fachen Wirksamkeit (10 000 ME/g) anzureichern. Die Aufarbeitung durchlief die drei folgenden Stufen (siehe auch die Tabelle S. 36):

1) Trennung in phenolische, neutrale und saure Fraktionen:

Die ätherische Lösung wurde mit 5%-iger wässriger Kalilauge erschöpfend ausgeschüttelt, so daß die Neutralteile allein im Äther blieben. Die wässrige Lösung wurde dann mit Salzsäure abgestumpft und mit CO_2 neutralisiert. Durch Ausäthern wurden daraus 45 g phenolische Teile mit 3—4000 ME/g erhalten. Die durch Verseifung mit Salzsäure erhältlichen sauren Teile waren unwirksam.

2) Entmischung zwischen wässrigem Methanol und Petroläther:

Die Verteilung der erhaltenen phenolischen Teile zwischen 91%-igem Methanol und hochsiedendem Petroläther gestattete eine weitere Anreicherung der oestrogenen Substanz in der methanolischen Phase zu 32 g von 5000 ME/g; die Petrolätherphase erwies sich als unwirksam.

3) Nochmaliges Trennen in phenolische, neutrale und saure Teile nach vorhergehender saurer Hydrolyse:

Die wirksame Phase wurde durch saure Hydrolyse mit 5-n-Salzsäure durch 4-stdg. Kochen in methanolischer Lösung weiter aufgespalten. Durch Ausschütteln mit Sodalösung wurden die unwirksamen sauren Anteile, durch Extraktion mit 5%-iger wässriger Kalilauge die wirksamen phenolischen isoliert und von der ebenfalls unwirksamen Neutralfraktion getrennt. Es wurden so 14,5 g einer zähen Substanz erhalten, die eine Wirksamkeit von 10 000 ME/g besaß.

II.

Für die eigenen Versuche stand ein ebenfalls von der Schering A.-G., Berlin, bereiteter methanolischer Extrakt von 660 g zur Verfügung, der aus 2000 kg Steinkohle gewonnen worden war. Jedoch zeigte diese Substanz nur eine Wirksamkeit von 400 ME/g.

Dieser Extrakt wurde in analoger Weise aufgearbeitet, nur in anderer Reihenfolge der Arbeitsgänge, indem die Zweiphasen-Trennung zwischen wässrigem Methanol und Petroläther als letzte durch-

geführt wurde. Nach der alkalischen Hydrolyse wurden 165 g phenolische Teile von etwa 800 ME/g, nach der sauren 106 g von etwa 1200 ME/g erhalten. Bei der weiteren Aufteilung zwischen Methanol und Petroläther konnte keine wesentliche Anreicherung erzielt werden; es wurden 80 g von 1330 ME/g erhalten.

Mit dieser Substanz (P) und den aus ihr erhaltenen Anreicherungsprodukten wurden in der Folge die Vorversuche für die weiteren Arbeitsgänge durchgeführt und im Falle ihres Gelingens auf die noch zur Verfügung stehende höher wirksame Substanz (H) von Hanisch übertragen.

Da im Falle des Vorliegens von Ooestron (XXII) bzw. einem seiner wasserstoffärmeren Verwandten Equilin (XXV) oder Equilenin (XXVI) mit einer Ketogruppierung der oestrogenen Substanz zu rechnen war, wurde in Analogie zu anderen bisher z. B. am Harn trächtiger Stuten durchgeführten Anreicherungsmethoden die Überführung der Ketonfraktion der Substanz P in ein wasserlösliches Kondensat mit dem Chlorid des Trimethyl-ammonium-essigsäurehydrazids, dem Reagens T von Girard (27), versucht. Die Vorversuche zeigten, daß nur ein sehr kleiner Teil als Ketonsubstanz (PK) isolierbar war. Die physiologische Auswertung dieser Substanz ergab, daß die Wirksamkeit (10 000 ME/g) zwar nicht in dem zur Verminderung der Substanzmenge reziproken Masse angewachsen, daß sie jedoch auf mehr als das 10-fache angestiegen war. (Die ketonfreie Substanz zeigte die entsprechend niedrigere Wirksamkeit von etwa 500 ME/g.) Dadurch ist es sehr wahrscheinlich gemacht, daß es sich nicht um das Vorkommen einer einheitlichen Substanz mit oestrogener Wirksamkeit handelt, was sich leicht z. B. durch das gleichzeitige Vorhandensein von Oestradiol (XXIII) bzw. Oestriol (XXIV) erklären ließe.

Die Anreicherung nach Girard (27) wurde in der folgenden Weise durchgeführt:

13,8 g Substanz H wurden in 60 ccm absol. Alkohol gelöst und nach dem Zusatz von 5,7 ccm Eisessig und 6 g Reagens T eine Stunde am Rückflußkühler gekocht. Die Reaktionslösung wurde dann in 430 ccm Eiswasser gegeben, die 4,75 g Soda (calc.) enthielten, und erschöpfend ausgeäthert. Der wässrige Teil wurde mit 40 ccm konz. Salzsäure versetzt und nach 12-stdg. Stehen bei Zimmertemperatur ausgeäthert. Die Ätherextrakte wurden mit Sodalösung und Wasser gewaschen und nach dem Trocknen, zuletzt im Vakuum, eingedampft. Der Rückstand bestand aus 394 mg

Ketonsubstanz (HK), mit der die folgenden Auswertungen im Allen-Doisy-Test vorgenommen wurden:

Dosis in mg	Anzahl Tiere pro Dosis	% der Tiere auf Vollbrunst	ME/g
0,0130	7	86	75 000
0,0100	6	50	100 000
0,0100	7	86	100 000
0,0066	8	50	150 000
0,0066	7	86	150 000
0,0050	8	38	200 000
0,0025	7	43	400 000

Die Wirksamkeit liegt demnach bei ungefähr 100 000—150 000 ME/g. Es ist also eine Anreicherung um das 10—15-fache erreicht worden.

Fällungsversuche mit Semicarbazidacetat an der Substanz P blieben ohne Erfolg.

Die chromatographische Adsorption an Aluminiumoxyd wie sie für die Gewinnung von Oestron (XXII) und Equilin (XXV) beschrieben wurde (36), brachte in mehreren Versuchen an der Substanz PK keine einheitlichen Ergebnisse. Da dieser Stoff in Petroläther der verschiedensten Fraktionen und in Benzol unlöslich ist, wurde in einem Gemisch von Petroläther (Sdp. 80—90°) und Dioxan im Verhältnis 2 : 1 gelöst und über eine Säule von Aluminiumoxyd (stand. nach Brockmann) gegeben. Bis zur Ausbildung zweier gefärbter Schichten wurde sodann mit demselben Lösungsmittel entwickelt und nach dem Herausnehmen und Zerlegen der Schichten mit absolutem Alkohol eluiert. In den verschiedenen Versuchen zeigten sämtliche Fraktionen weiterhin eine Wirksamkeit, die jedoch in den einander entsprechenden Anteilen in ihrer Intensität so sehr schwankte, daß eine Anwendung dieser Methode keinen Erfolg versprach, umso mehr als quantitativ die Summe der vorhandenen „Mäuse-Einheiten" wesentlich reduziert wurde.

Versuche, die sich mit der Fällung der oestrogenen Substanz als Quecksilberhydroxyd-Komplex beschäftigten, einer Methode, die zur Anreicherung von Oestron (XXII) aus dem Harn schwangerer Stuten angewendet worden war (37), schlugen ebenfalls fehl, da bei sämtlichen Ansätzen fast die gesamte Wirksamkeit eingebüßt wurde.

Bei der Reduktion des Oestrons (XXII) zum Oestradiol (XXIII) erhält man zwei Isomere, von denen das eine, α-Oestradiol, eine ungefähr dreifach höhere Wirksamkeit als Oestron besitzt (31). Versuche, die Anwesenheit von Oestron qualitativ unter Ausnutzung dieser Tatsache durch eine eventuelle Erhöhung der Wirksamkeit nach der Reduktion der Substanz PK nachzuweisen, ergaben keine erfolgversprechenden Resultate. Die Wirkungsintensität der durch Reduktion mit Natrium und n-Propylalkohol erhaltenen Präparate war die gleiche geblieben. Mit Digitonin wurde in 80%-iger alkoholischer Lösung keine schwerlösliche Additionsbildung isoliert, wie es beim Vorhandensein von β-Oestradiol hätte der Fall sein müssen (38).

Nach dem Fehlschlagen dieser chemischen Methoden wurden 100 mg der bis dahin höchstangereicherten Substanz HK (150 000 ME/g) der fraktionierten Destillation im Hochvakuum unterworfen. Dabei wurde in den mittleren Fraktionen, zwischen 120° und 130°, eine weitere Steigerung der oestrogenen Wirksamkeit gefunden. Die ersten und letzten Destillate waren schwächer, der Rückstand garnicht wirksam. Auf diese Weise konnten 26,5 mg höchstwirksamer Substanz erhalten werden, deren physiologische Auswertung folgende Ergebnisse zeigte:

Dosis in mg	Anzahl Tiere pro Dosis	% der Tiere auf Vollbrunst	ME/g
0,0066	6	100	150 000
0,0066	6	100	150 000
0,0050	6	100	200 000
0,0040	6	100	250 000
0,0040	6	83	250 000
0,0036	6	67	275 000
0,0033	6	50	300 000
0,0033	5	80	300 000

Demnach liegt die Wirksamkeit bei der Größenordnung von 300 000 ME/g.

Das Mißlingen der beschriebenen chemischen Umsetzungen zur Anreicherung der Oestrus auslösenden Substanz ist kein Kriterium dafür, daß Oestron nicht das wirksame Prinzip sei, da bei der Uneinheitlichkeit der verwendeten Substanzen keine normalen Umsetzungen gefordert werden können.

Da auch diese höchstgereinigte Substanz äußerlich noch ein dunkles Öl darstellt, also sehr uneinheitlich ist, ist die Möglichkeit

des Vorhandenseins von Oestron, dessen Wirksamkeit ungefähr die 30-fache ist, keineswegs ausgeschlossen.

Nach Butenandt und Westphal (39) kann man Oestron über die Molekülverbindung mit Chinolin reinigen. Ein Versuch in dieser Richtung ergab nach sechsmonatigem Stehen keine Krystallisation, was freilich bei der geringen Reinheit der erhaltenen Fraktion auch zu erwarten war.

Aus den vorstehenden Versuchen hat sich erwiesen, daß die oestrogene Wirksamkeit der Steinkohlenextrakte in erster Linie gekoppelt ist an jene Stoffe, die eine phenolische Hydroxyl- und eine Ketogruppe in ihrem Molekül tragen, daß aber wahrscheinlich auch mit dem Vorhandensein anderer Stoffe — in geringerer Menge oder mit geringerer Wirksamkeit — neben diesem wirksamsten Prinzip zu rechnen ist.

Tabelle.

Anreicherung des oestrogenen Prinzips der Steinkohle.

Steinkohle

↓ mit CH_3OH extrahiert → in CH_3OH unlösliche Anteile

Methanolextrakt

↓ mit Äther extrahiert → in Äther unlösliche Anteile

Ätherextrakt (1000 ME/g)

↓ Hydrolyse mit 5%iger KOH → saure und neutrale Anteile

Phenolische Anteile (3—4000 ME/g)

↓ Entmischung mit Methanol und Petroläther → Petroläthercharge

Methanolphase (5000 ME/g)

↓ Hydrolyse mit 5-n-HCl → saure und neutrale Anteile

Phenolische Teile (10 000 ME/g)

↓ Trennung n. Girard (27) → ketonfreie Anteile

Ketoncharge (100—150 000 ME/g)

↓ Fraktionierte H.-V.-Destillation

Höchstwirksame Fraktion (300 000 ME/g).

Literaturverzeichnis.

1. Vergl. Zusammenfassung: Reichstein, Erg. d. Vit. u. Hormonfrschg. Band I (1938).
2. Reichstein, v. Euw, Helv. chim. Acta **21**, 1197 (1938).
3. Lit. vergl.: Ztschr. physiol. Chem. **237**, 64 (1938).
4. Ruzicka, Goldberg, Rosenberg, Helv. chim. Acta **18**, 1496 (1935).
5. Butenandt, Schmidt, Cobler, B. **69**, 448, 882 (1936).
6. Butenandt, Schmidt-Thomé, Paul, B. **71**, 1313 (1938).
7. Ruzicka u. a., Helv. chim. Acta **19**, 363 (1936).
8. Inhoffen, Hohlweg, Naturwiss. **26**, 96 (1938).
9. Kuwada, Yago, Journ. pharmac. Soc. Japan **56**, 625 (1936) (C. **1937 I**, 3808).
10. Kogerman, Journ. Amer. chem. Soc. **52**, 3060 (1930).
11. Austerweil, C. **1912 I**, 1267. Krestinsky, B. **55**, 2773 (1922).
12. Ruzicka, Hofmann, Meldahl, Helv. chim. Acta **21**, 371, 597 (1938).
13. Inhoffen, Logemann, Hohlweg, Serini, B. **71**, 1024 (1938).
14. Meisenheimer, Casper, B. **54**, 1655 (1921).
15. Jaworsky, B. **42**, 435 (1909).
16. Miescher, Wettstein, Helv. chim. Acta **21**, 1317 (1938).
17. Reichstein, Gätzi, Helv. chim. Acta **21**, 1185 (1938).
18. H. Paul, Dissertation Berlin 1939.
19. Oppenauer, Rec. Trav. Chim. Pay-Bas **56**, 137 (1937).
20. Cohen, Cook, Hewett, Journ. chem. Soc. London **1935**, 445.
21. Schoenheimer, Ztschr. physiol. Chem. **192**, 87 (1930).
22. Westphal, Hellmann, B. **70**, 2136 (1937).
23. Criegee, A. **522**, 75 (1936).
24. Serini, Logemann, B. **71**, 1362 (1938).
25. Butenandt, Wolz, B. **71**, 1483 (1938).
26. Verkade, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **57**, 826 (1938).
27. Girard, Sandulesco, Helv. chim. Acta **19**, 1095 (1936).
28. Criegee, B. **64**, 260 (1931).
29. Vergl. Butenandt, Untersuchungen über das weibliche Sexualhormon. Weidmannsche Buchhandlung Bln. 1931.
30. Vergl. Störmer, Westphal, Das weibliche Sexualhormon. Erg. Physiol. **35**, 318 (1933).
31. Vergl. Schmidt-Thomé, Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete oestrogener Wirkstoffe. Erg. Physiol. **39**, 191 (1937).
32. Butenandt, Jacobi, Ztschr. physiol. Chem. **218**, 104 (1933).
33. Skarzynski, Nature **131**, 766 (1933); Bull. internat. Acad. polonaise, Cl. sci. math.-nat. B. **11**, 347 (1933).
34. Aschheim, Hohlweg, Dtsch. med. Wschr. **59**, 12 (1933).
35. Hanisch, Dipl.-Arbeit Danzig 1935.
36. Duschinsky, Lederer, Bull. Soc. Chim. biol. Paris **17**, 1534 (1935).
37. Beall, Edson, Biochem. Journ. **30**, 577 (1936).
38. Wintersteiner, Journ. Amer. chem. Soc. **59**, 765 (1937).
39. Butenandt, Westphal, Ztschr. physiol. Chem. **223**, 159 (1934).
40. Butenandt, Peters, B. **71**, 2688 (1938).

Lebenslauf.

Am 5. November 1913 wurde ich als Sohn des 1915 gefallenen Regierungsrates Dr. Waldemar Peters und seiner Ehefrau Wilhelmine geb. Linnemann in Fulda geboren. Von Ostern 1920 ab besuchte ich die Bürgerschule in Göttingen, ab 1923 die Kaiser-Wilhelm-II.-Oberrealschule daselbst und ab 1929 die Leibniz-Oberrealschule in Leipzig, an der ich Ostern 1932 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Chemie begann ich im Sommersemester 1932 an der Universität Leipzig und setzte es 1933 an der Universität München fort, wo ich im Februar 1935 das erste chemische Verbandsexamen bestand. Bis zur Ablegung des zweiten chemischen Verbandsexamens im Februar 1937 setzte ich die Studien wieder in Leipzig fort. Von diesem Zeitpunkt an war ich, unter einjähriger Fortsetzung meiner Studien an der Universität Berlin, am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem mit der Anfertigung meiner Doktorarbeit beschäftigt. Im Juli 1938 wurde ich zum Leutnant M. A. d. R. befördert.

Meine akademischen Lehrer waren:

in Leipzig: Böttger, Bonhoeffer, Bredereck, Debye, Hein, Helferich, Hund, Rassow, Ruhland, Weygand;

in München: Fajans, Gerlach, Hönigschmid, Prandtl, Wieland;

in Berlin: Butenandt, Diels, Noack.